

На правах рукописи

СУТОРМИНА МАРИЯ ИГОРЕВНА

МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ
РЕГУЛЯЦИИ ИОННОГО ТРАНСПОРТА
В НЕКОТОРЫХ КЛЕТКАХ ЖИВОТНЫХ

Специальность 05.13.18 – Математическое моделирование, численные
методы и комплексы программ

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Екатеринбург-2010

Работа выполнена на кафедре технической физики в ФГАОУ ВПО
«Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б.Н.Ельцина», г. Екатеринбург.

Научный руководитель: доктор физико-математических наук, профессор
Мелких Алексей Вениаминович

Официальные оппоненты: доктор технических наук, профессор
Гольдштейн Сергей Людвигович

доктор физико-математических наук, профессор
Соловьева Ольга Эдуардовна

Ведущая организация: Пермский Государственный Университет
г. Пермь

Защита состоится **«28» декабря 2010 г. в 15:00 часов** на заседании
диссертационного совета Д 212.285.13 при ФГАОУ ВПО «Уральский
федеральный университет имени первого Президента России Б.Н.Ельцина» по
адресу: 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, аудитория I главного учебного
корпуса (зал ученого совета).

С диссертацией можно ознакомиться в читальном зале библиотеки в
ФГАОУ ВПО «Уральский федеральный университет имени первого Президента
России Б.Н.Ельцина».

Отзыв на автореферат в одном экземпляре, заверенный гербовой печатью,
просим направить по адресу: 620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, ФГАОУ
ВПО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России
Б.Н.Ельцина», ученому секретарю университета.

Автореферат разослан «26» ноября 2010 года.

Ученый секретарь диссертационного
совета Д 212.285.13,
кандидат физ.-мат.наук, профессор

Рогович В.И.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. Применение математических моделей регуляции ионного транспорта позволит исследователям получить качественную оценку происходящих в клетке изменений вследствие изменения внешних параметров. Для моделирования регуляции внутренних параметров необходимо иметь зависимости внутренних параметров от внешних для стационарного состояния.

На данный момент подобные модели построены лишь для некоторых клеток, а моделей регуляции в литературе нет вообще. Такие модели позволили бы более глубоко понимать процессы регуляции транспорта ионов в этих клетках. В перспективе такое понимание может позволить более эффективно проводить лечение конкретных заболеваний, а так же может способствовать созданию медицинских препаратов.

Сложность построения моделей связана с отсутствием экспериментальных данных о многих параметрах клетки, в связи с чем возникает необходимость использования приближенных алгоритмов и некоторых упрощений.

Объект исследования. Процессы ионного транспорта в некоторых клетках животных.

Предмет исследования. Разработка модели регуляции транспорта ионов в клетках, способов решения систем уравнений, описывающих ионный транспорт, и их верификация.

Цель работы и задачи исследования. Целью данного исследования является построение в первом приближении моделей регуляции внутренних концентраций, объема и внутриклеточного давления в некоторых клетках животных и выявление механизмов реакции клеток на изменение состава окружающей среды.

Для достижения поставленной цели в диссертации последовательно решены следующие задачи:

1. Предсказание внутриклеточных концентраций и потенциала на мембране клетки на основе информации о внеклеточных концентрациях и транспортных механизмах.

2. Моделирование процессов регуляции транспортных процессов в клетках на основе знаний о зависимостях внутриклеточных концентраций и потенциала от внешних параметров.

3. Моделирование стратегий поведения клетки в изменяющихся внешних условиях.

Научная новизна работы. 1. С помощью алгоритма «один ион – одна система транспорта» составлены и аналитически решены системы уравнений, моделирующие в первом приближении транспорт ионов следующих клеток: кардиомиоцита, нейрона, эритроцита и гепатоцита.

2. Показано, что с помощью операций включения и выключения дополнительных транспортных систем в клетке можно обеспечить малость изменения внутреннего состава и потенциала при существенном изменении внешних концентраций.

3. Разработаны алгоритмы моделей регуляции объема и давления, рассматривающие две возможных крайних стратегии поведения клетки в изменяющихся внешних условиях.

Защищаемые положения. 1. Множество параллельных систем транспорта для ионов одного типа на основе идей адаптивного и робастного управления можно разбить на главные, обеспечивающие необходимый уровень внутренних концентраций и значение потенциала, и регуляторные, ответственные за гомеостаз. Нулевое приближение для расчета потенциала клетки можно получить аналитически на основе учета только основных систем транспорта.

2. Для обеспечения гомеостаза при существенном изменении состава внешней среды в соответствии с полученной моделью в клетке может происходить переход с одной системы транспорта (основной) на другую (регуляторную).

3. Предложенные алгоритмы моделей регуляции ионного транспорта в клетках, учитывающие изменение состава внеклеточной среды, качественно описывают включение дополнительных транспортных систем, наблюдаемое в экспериментах.

Научная и практическая значимость работы. Предложенные алгоритмы моделей могут быть применены для расчета значений внутренних параметров при заданных изменениях внешних параметров для клеток животных. Возможность математического моделирования ионного транспорта упростит и удешевит процесс анализа воздействий тех или иных медицинских препаратов на живой организм. Кроме того построение подобных моделей необходимо для понимания сложных внутриклеточных процессов.

Апробация. Основные результаты и положения исследования были представлены и обсуждались на конференциях молодых ученых УГТУ-УПИ (Екатеринбург, 2009-2010); на научно-практических конференциях студентов и молодых учёных кафедры технической физики УГТУ-УПИ (Екатеринбург, 2009-2010); на IV Международной конференции по синтетической биологии (КНР, Гонконг, 2009); на 17 Международной конференции "Математика. Компьютер. Образование" (Дубна, 2010).

Публикации. По теме диссертации имеется 8 публикаций, в том числе 2 статьи в научных журналах из Перечня, рекомендуемого ВАК.

Объем и структура работы. Диссертация состоит из введения, трех глав, заключения, списка литературы из 75 наименований и содержит 123 страниц основного машинописного текста, 33 рисунка, 13 таблиц.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во Введении обоснована актуальность решаемой проблемы, выделены научная новизна и практическое применение поставленных задач.

В первой главе *приведен обзор существующих математических моделей систем ионного транспорта в клетках животных, рассмотрены различные подходы к моделированию биологических систем, описана физическая постановка задачи.*

Клетка животных ограничена гибкой полупроницаемой для ионов мембраной. Помимо прочего функцией клеточных мембран является транспортная функция – перенос ионов, как из клетки, так и внутрь неё. Транспорт ионов осуществляется специальными белками, встроенными в мембрану. Эти белки играют роль «насосов» и пассивных транспортных систем, обеспечивающих необходимый для жизнедеятельности клетки ионный состав и электрический потенциал на мембране. Почти для каждого типа ионов известно несколько различных транспортных систем. В связи с чем возникает проблема моделирования – для расчета результирующего потока одного типа ионов, создаваемого параллельной работой двух и более механизмов переноса, необходимо иметь информацию о количестве белков-переносчиков в мембране, о скорости и частоте их работы. Для большинства клеток и большинства транспортных систем этих данных на сегодняшний день нет.

Кроме того, для моделирования ионного транспорта необходимы формулы потоков ионов через мембрану, учитывающие и стехиометрию процесса, и расход энергии. В большинстве существующих в литературе моделей ионного транспорта обычно используются полуэмпирические формулы переноса ионов, в которых отсутствует основная термодинамическая сила – разность химических потенциалов реакции гидролиза АТФ.

В настоящей работе проводится моделирование ионного транспорта на основе формул потоков ионов из ранее опубликованных работ [1-3]. Предложенные авторами уравнения для потоков учитывают гидролиз АТФ в явном виде и позволяют независимо рассчитать значения внутренних концентраций ионов и мембранного потенциала. Выражение для потока, создаваемого транспортной АТФазой, будет иметь вид:

$$J_a = C_a \frac{\exp\left(\frac{\Delta\mu_A + \phi e - Q}{kT}\right)n^{in} - \exp\left(\frac{-Q}{kT}\right)n^{out}}{\left[1 + \exp\left(\frac{\Delta\mu_A + \phi e - Q}{kT}\right)\right]\left[1 + \exp\left(-\frac{Q}{kT}\right)\right]}, \quad (1)$$

где n^{in} , n^{out} – значения внутренних и внешних концентраций иона; ϕ – мембранный потенциал; Q – разность уровней энергии конформона, авторы принимают её равной теплоте реакции гидролиза ($Q \approx 10$ кТ); $\Delta\mu_A$ – разность химических потенциалов неравновесной системы АТФ-АДФ; C_a – константа активного переноса, учитывающая среднюю тепловую скорость ионов, характерный размер сорбционного центра и величину энергетического барьера, отделяющего сорбционный центр от раствора.

Основой модели транспорта ионов в клетке являются выражения для потоков всех типов ионов, которые должны обращаться в ноль в стационарном состоянии:

$$J_i = \sum_j c_{ij} \cdot J_{ij} = 0, \quad (2)$$

где индекс j обозначает различные системы транспорта i -того типа ионов. Потоки J_{ij} находятся по формулам типа (1).

Как правило, информация о коэффициентах c_{ij} отсутствует, поэтому в настоящей работе предложен альтернативный вариант решения задачи о нахождении значений внутренних концентраций ионов в условиях отсутствия некоторой информации о транспортных системах. Основная идея решения и алгоритмы, позволяющие выявлять механизмы обеспечения необходимого состава и потенциала, а также регуляции для поддержания гомеостаза при изменении внешней среды приведены во второй главе.

Вторая глава посвящена построению моделей транспортных систем, разработке алгоритмов регуляции ионного транспорта, регуляции давления и объема клетки.

Математическая формулировка изменений внутренних концентраций и мембранного потенциала в клетке, исходя из закона сохранения числа частиц в системе, содержит неизвестные на данный момент коэффициенты работы транспортных систем, коэффициенты проницаемости мембраны. В таком случае мы прибегаем к альтернативным методам решения, основанным с одной стороны на информации о рассматриваемых клетках, а с другой – на общих законах оптимального управления в различных системах.

При одновременной работе нескольких активных транспортных систем для ионов одного типа могут возникать ситуации существенного снижения коэффициента полезного действия КПД свободной энергии гидролиза АТФ. Поэтому резонно полагать, что в процессе эволюции клетка «подобрала» наиболее эффективные транспортные механизмы, позволяющие решать как задачу обеспечения необходимого уровня внутренних концентраций ионов и мембранного потенциала для типичных внешних условий, так и задачу поддержания при существенном изменении условий.

В соответствии с этими представлениями сделано предположение, что требуемый уровень внутренних концентраций каждого типа ионов создается в основном одним главным транспортным механизмом. В этом случае для типичных внешних условий КПД сохраняется на уровне близком к 1. А остальные транспортные системы играют вспомогательную роль обеспечения гомеостаза при отклонении внешних значений от нормы.

Тогда в системе уравнений, описывающих изменения внутренних параметров в клетке исходя из закона сохранения числа частиц в системе, в каждом уравнении остается только одно слагаемое и необходимость знания коэффициентов c_{ij} отпадает.

Кроме того в нашей модели мы будем иметь дело с квазистационарным состоянием, когда внутренние концентрации и потенциал успевают подстроиться под изменения внешней среды. Тогда суммарный поток каждого типа ионов через мембрану будет равен нулю.

В этом случае система уравнений для потоков ионов сводится к следующей:

$$\left\{ \begin{array}{l} c_1 \cdot f_1(n_1^{in}, \dots, n_n^{in}, n_1^{out}, \dots, n_n^{out}, \varphi) = 0 \\ c_2 \cdot f_2(n_1^{in}, \dots, n_n^{in}, n_1^{out}, \dots, n_n^{out}, \varphi) = 0 \\ \dots \\ c_n \cdot f_n(n_1^{in}, \dots, n_n^{in}, n_1^{out}, \dots, n_n^{out}, \varphi) = 0 \\ \sum_{i=1}^n z_i \cdot n_i^{in} = 0 \end{array} \right. \quad (3)$$

где c_i – величина, учитывающая количество транспортных белков этого типа в мембране, скорость и частоту их работы, в общем случае зависит от концентраций ионов как внутри, так и снаружи клетки; f_i – поток через один (основной) транспортный механизм i -того типа ионов.

Система уравнений (3) дополнена условием электронейтральности среды внутри клетки, которое является следствием уравнений Максвелла для проводящей среды – раствора.

Для того чтобы определиться с выбором главной транспортной системы (т.е. с видом функций f), воспользуемся алгоритмом «один ион – одна система транспорта». Суть этого алгоритма заключается в том, что имея ограниченный набор функций f , описывающих работу всех транспортных механизмов, для каждого n_i , поочередно проверяем, которая из них даёт наилучшее согласование с экспериментальными данными. Другими словами для каждого i -того типа ионов вычисляется значение n_{ij}^{in} , создаваемое j -тым транспортным механизмом f_j , затем из множества рассчитанных $\{n_{ij}^{in}\}$ выбирается такое значение, для которого выполняется условие $\min\{|\bar{n}_i^{in} - n_{ij}^{in}|\}$, где \bar{n}_i^{in} – известное из эксперимента значение i -того внутреннего параметра. Аналогичную процедуру повторяем для всех n_i .

Однако такой подход не позволяет ограничить максимальное отклонение рассчитанного значения от опытных данных. Для уменьшения погрешности введём параметр δ , который будет определять это отклонение. В этом случае вместо условия минимума вводится условие $n_{ij}^{in} \in [\bar{n}_i^{in} - \delta; \bar{n}_i^{in} + \delta]$.

Если этому условию удовлетворяют два и более значения n_{ij}^{in} , то выбирается то, которое даёт минимум отклонения от экспериментального значения. Если же ни одно из рассчитанных значений не удовлетворяет, то возможны два пути: либо увеличение интервала допустимой погрешности, либо использование искусственного приёма нахождения зависимости внутреннего параметра от внешних – «эквивалентный насос». Суть этого механизма состоит в том, что в ситуации, когда для реального объекта моделирования для одного типа ионов невозможно выбрать одно слагаемое как наиболее значимое, будем считать, что одновременно два или более слагаемых вносят примерно равный вклад. Другими словами не один, а два или более транспортных механизмов, работающих одновременно, обеспечивают требуемый уровень значения

внутренней концентрации. Тогда их суммарное действие можно представить в виде некоторой функции, неизвестные параметры которой находятся, подставляя известные опытные данные: $\bar{n}_i^{in} = \bar{n}_i^{out} \cdot \exp(\Delta\mu_i - \bar{\varphi})$, где \bar{n}_i^{in} , \bar{n}_i^{out} , $\bar{\varphi}$ – известные из эксперимента значения концентрации i -того типа ионов внутри и снаружи соответственно и мембранный потенциал.

Из (3) можно получить зависимости внутренних параметров от внешних и потенциала. Подставив эти зависимости в условие электронейтральности, выведем выражение для мембранного потенциала в явном виде как функцию внешних концентраций. Таким образом, для описания стационарной системы ионного транспорта в клетке мы имеем явный вид зависимостей каждого внутреннего параметра от внешних условий. Построенная модель позволяет независимо находить внутренние параметры системы как функции внешних для стационарного состояния.

Надо отметить, что неравновесие в клетке, необходимое для поддержания жизни, обеспечивается работой активных транспортных механизмов – насосов, использующих для своей работы энергию АТФ. Это означает, что одной из выбранных основных систем переноса в рассматриваемых клетках обязательно должна быть Na-K-АТФ-аза. При гидролизе одной молекулы АТФ этот механизм переносит два иона калия в клетку и три иона натрия в противоположную сторону, и может считаться главным механизмом либо для ионов калия, либо для ионов натрия. Кроме того, большинство транспортных систем осуществляет перенос одновременно двух и более типов ионов, однако для решения системы (3) необходимо иметь различные виды функций f_i . Соответственно, выбранный в качестве основного для одного типа ионов механизм переноса исключается из дальнейшего рассмотрения. Для корректного определения основных транспортных систем необходимо ввести иерархию типов ионов. Мы предлагаем выделить потенциалобразующие ионы, и начинать моделирование с выбора транспортных систем этих ионов. К потенциалобразующим ионам относятся те ионы, концентрация которых внутри или снаружи клетки велика – ионы Na^+ , K^+ и Cl^- . Остальные ионы будут рассматриваться в порядке уменьшения значения их внутриклеточной концентрации.

Согласно экспериментальной информации при изменении значений внешних концентраций ионов изменяются транспортные системы: включаются дополнительные механизмы, они могут работать одновременно с основной системой ионного транспорта либо происходит переключение с одной системы на другую [4-5]. Другими словами, в некотором интервале значения n_i^{out} большой вклад будет вносить уже другое слагаемое уравнения (2) либо два слагаемых вместе. Для построения алгоритмов регуляции необходимо определиться с критериями выбора клеткой тех или иных стратегий поведения в изменяющихся условиях. Мы предполагаем, что с одной стороны для полноценной жизнедеятельности клетке важно поддерживать значений внутренних концентраций и потенциала на мембране на заданном уровне, а с другой – энергетические затраты на поддержание баланса должны быть

минимальны. Можно показать, что при одновременной работе двух и более различных систем транспорта для одного типа ионов суммарный КПД будет меньше 100%, даже если каждая система в отдельности работает со 100% КПД. Основываясь на этом, мы выделим два критерия: эффективность и оптимальность работы.

Под эффективной работой транспортных систем будем понимать такую стратегию, при которой КПД механизмов переноса ионов будет максимален. Оптимальной работой назовём такую, в результате которой достигается максимальное соответствие необходимым внутренним параметрам. Для моделирования процессов регуляции мы будем рассматривать эти два крайних случая, понимая, что реальные стратегии поведения клетки будут их комбинацией.

Тогда в регуляции транспорта ионов можно выделить две стратегии, соответствующие предельным случаям работы насосов.

В первом случае потребуем, чтобы КПД двух имеющихся параллельных систем был бы максимален. Это можно выполнить, если в каждый момент работает только одна из систем транспорта для одного типа ионов. В этом случае относительную робастность можно обеспечить, двигаясь по той кривой, которая наиболее близка к нормальной концентрации (рис.1). В этом случае робастность будет заведомо больше, чем при наличии только одной системы транспорта.

Во втором случае потребуем, чтобы, по крайней мере, на каком-то участке обеспечивалась полная независимость внутренних концентраций от внешних. Этого можно добиться выбором соответствующей зависимости частоты работы одной из систем транспорта от концентраций. При этом КПД транспортных систем будет меньше, но таким образом на некотором участке можно обеспечить полную робастность (рис.2).

Тогда алгоритм моделирования процессов регуляции будет следующим:

1. Определить для каждого n_i основную систему транспорта f_{ij} (она дает наилучшее совпадение с экспериментом в норме, т.е. $n_{ij}^{in} \approx \bar{n}_i^{in}$). Вывести аналитическую зависимость потенциала от внешних параметров, используя условие электронейтральности.
2. Определить из экспериментальных данных регуляторные системы (вспомогательные f_{ik}) для каждого типа ионов.
3. Построить зависимость внутренней концентрации от внешней для основной системы (с учетом возможного изменения потенциала)

$$n_{ij}^{in} = f_{ij}(n_i^{out}, \varphi).$$
4. Построить зависимость внутренней концентрации от внешней для регуляторных систем (с учетом возможного изменения потенциала)

$$n_{ik}^{in} = f_{ik}(n_i^{out}, \varphi) \text{ для всех } k \neq j.$$
5. Используя графический метод, выбрать кривую, наиболее близкую к норме при изменении внешней концентрации.
6. Найти точку, при которой выгодно переключение с основной системы транспорта на регуляторную.

Графически нахождение стратегий регуляции ионного транспорта может быть представлено следующим образом: на рисунке 1 показана эффективная регуляция (первый случай); на рисунке 2 продемонстрировано обеспечение робастности на некотором участке.

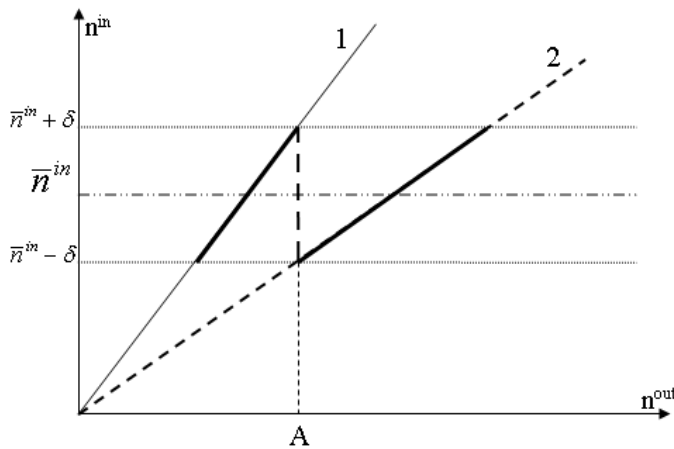


Рис.1. Эффективная регуляция

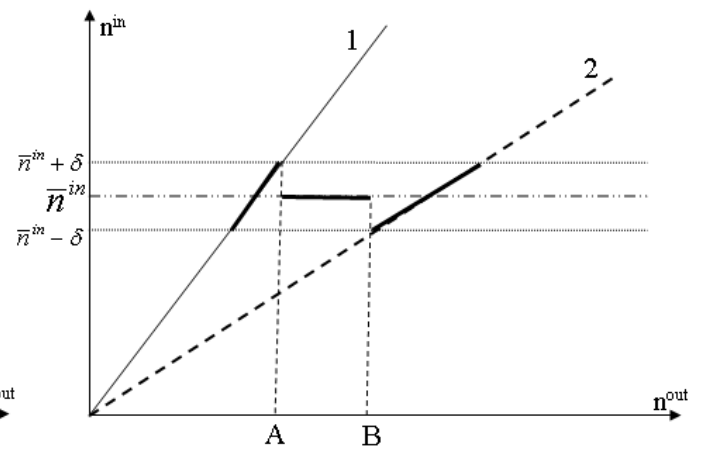


Рис.2. Робастная регуляция

Обозначения на рисунках: прямыми 1 и 2 показана работа двух транспортных механизмов; жирной линией обозначена выбранная стратегия. В точках А и В происходит переключение с одной системы транспорта на другую, поскольку работа второй системы обеспечивает минимальное отклонение от нормы \bar{n}^{in} или попадание в заданный интервал $[\bar{n}^{in} \pm \delta]$. В интервале А-В на рис.2 для поддержания требуемого уровня значений концентрации необходима одновременная работа обоих механизмов переноса.

С другой стороны на значение внутренней концентрации одного иона влияют значения внешних концентраций всех ионов, а также мембранный потенциал. Для того чтобы учесть хотя бы два внешних параметра можно построить трехмерные графики зависимости внутриклеточной концентрации одного иона от изменения внешних концентраций двух ионов. Изменение потенциала также будет влиять на искомое значение внутренней концентрации, поскольку он входит в выражение для определения внутреннего значения концентрации и является явной функцией внешних концентраций.

Искомой стратегией в данном случае мы будем считать максимально эффективную, т.е. в каждый момент времени работает только один механизм транспорта. В этом случае искомая стратегия будет являться набором точек на плоскостях, обозначающих механизмы переноса ионов, минимально отличающихся от нормы в относительных единицах, т.е. будет выполняться условие минимума для некоей целевой функции, характеризующейся квадратом отклонения от нормального значения. Таким образом, для каждого значения внеклеточной концентрации иона будет находиться точка на одной из плоскостей, отвечающих за работу транспортных механизмов, которая максимально близка к заданным параметрам. Целевая функция будет иметь вид:

$$\Delta = \sqrt{\left(\frac{\Delta n_1}{n_1}\right)^2 + \left(\frac{\Delta n_2}{n_2}\right)^2} \rightarrow \min \quad (4)$$

Относительные единицы введены для того, чтобы иметь возможность сравнивать вклад добавки для каждого иона, несмотря на значительные различия в значениях, иногда на порядок.

Алгоритм моделирования процессов регуляции ионного транспорта в клетке для трехмерного случая будет аналогичен алгоритму для двухмерного.

Изменение внеклеточных концентраций ионов приводит к изменению потенциала и значений внутренних концентраций ионов. Одним из последствий таких изменений является увеличение или уменьшение внутреннего давления и объема клетки. Однако сохранение формы клеток необходимо для их существования. Если клетка не справляется с возрастающим внутриклеточным давлением или расширением мембраны, то она, как правило, погибает. Аналогичным образом ведет себя клетка и при критическом понижении давления, при чрезмерном сжатии. Можно показать, что в изотермических условиях внутриклеточное давление напрямую зависит от суммарной концентрации всех присутствующих в клетке ионов. В свою очередь объем клетки напрямую зависит от внутриклеточного давления.

Таким образом, регуляция объема и внутриклеточного давления сводится к регуляции значения суммарной концентрации всех ионов.

В третьей главе проводится верификация предложенных моделей и алгоритмов на примере четырех типов клеток животных: кардиомиоцита, нейрона, эритроцита и гепатоцита.

Продemonстрируем процесс моделирования ионного транспорта на примере клетки кардиомиоцита. Будем считать, что Na-K-АТФ-аза является основным транспортным механизмом для ионов натрия. Действуя согласно нашему алгоритму, будем перебирать транспортные механизмы другого потенциалобразующего иона – калия:

- натрий-калий-АТФ-аза;
- калий-натрий-хлор-котранспорт;
- калий-хлор-котранспорт;
- калиевые каналы (пассивный транспорт).

Другими словами суммарный поток калия в клетку будет иметь вид:

$$J_K = J_{Na-K-ATP} + J_{K-Na-Cl} + J_{K-Cl} + J_{Kpas} \quad (5)$$

Согласно нашему алгоритму для построения модели без регуляции мы рассматриваем стационарное состояние, при котором суммарный поток калия через мембрану равен нулю. Из четырёх слагаемых необходимо выбрать одно, вносящее максимальный вклад в формирование потока, для этого запишем выражения, описывающие работу каждой системы, при этом из рассмотрения исключается Na-K-АТФ-аза:

$$J_{K-Na-Cl} = C_{K-Na-Cl} \cdot \left[n_{Na}^{in} \cdot n_K^{in} \cdot (n_{Cl}^{in})^2 - n_{Na}^{out} \cdot n_K^{out} \cdot (n_{Cl}^{out})^2 \right] \quad (6)$$

$$J_{K-Cl} = C_{K-Cl} \cdot \left[n_K^{in} \cdot n_{Cl}^{in} - n_K^{out} \cdot n_{Cl}^{out} \right] \quad (7)$$

$$J_{Kpas} = P_K \cdot \left[n_K^{in} \cdot \exp(\varphi) - n_K^{out} \right] \quad (8)$$

где C_i – константы, учитывающие количество транспортных белков данного типа, скорость и частоту их работы; P_K – проницаемость мембраны для ионов калия [1-3].

Приравнивая к нулю каждое уравнение и подставив известные из эксперимента значения, рассчитаем, какое значение внутриклеточной концентрации ионов калия может создать каждая из этих систем:

- K-Na-Cl: $n_K^{in} = 43,5 \cdot 10^3$ mM;
- K-Cl: $n_K^{in} = 120$ mM;
- пассивный поток: $n_K^{in} = 146,4$ mM.

Сравнив с экспериментальными данными (Табл.1) полученные значения, делаем вывод, что основной транспортной системой для ионов калия в клетке сердца является его пассивное проникновение по электрохимическому градиенту. Таким образом, зависимость внутренней концентрации от внешней и потенциала из (8) будет иметь вид:

$$n_K^{in} = n_K^{out} \cdot \exp(-\varphi) \quad (9)$$

Аналогичным образом рассматривается транспорт третьего потенциалобразующего иона Cl^- , а затем остальных ионов. При определении внутриклеточной концентрации ионов хлора, создаваемой OH^-Cl^- -обменником для расчета концентраций OH^- -группы использовалась информация об уровне кислотности среды внутри и вне клетки сердечной мышцы.

Отметим, что в стационарном состоянии некоторые транспортные системы могут обеспечивать одинаковый уровень внутренней концентрации одного типа ионов. Например, для ионов кальция такими оказались Ca-АТФ-аза и натрий кальциевый обменник. В этом случае выбор одной из этих систем в качестве основной произволен.

Результаты моделирования ионного транспорта в клетке кардиомиоцита для стационарного состояния приведены в Таблице 1.

Таблица 1.

Сравнение рассчитанных и экспериментальных значений внутренних концентраций ионов для клетки кардиомиоцита

Ионы	Экспериментальные данные [6], mM	Рассчитанные данные, mM
Натрий	12	13,3
Калий	155	146
Магний	$0,5 \div 1$	1,7
Кальций	$10^{-3} \div 10^{-4}$	10^{-5}
Бикарбонат	8	0,7
Хлор	4	3,2

Применение предложенных алгоритмов регуляции для моделирования транспорта ионов калия в клетке кардиомиоцита в условиях изменяющейся внешней среды позволило объяснить наблюдаемое в опытах включение Na-K-Cl-котранспортера при увеличении внешней концентрации ионов калия [7].

Несмотря на то, что электрические свойства нейронов различных организмов в состоянии покоя во многом схожи, при моделировании отдельно

рассматривались нейрон кальмара и млекопитающего ввиду значительных различий в составе внешней среды для них. Выяснилось, например, что для наилучшего совпадения с экспериментальными данными следует выбирать разные механизмы, переносящие ионы хлора. Кроме того, в процессе построения модели ионного транспорта использовался «эквивалентный насос» для нахождения основного транспортного механизма ионов калия.

Результаты моделирования ионного транспорта в клетке эритроцита по предложенным алгоритмам приведены в Таблице 2.

Таблица 2.

Сравнение рассчитанных и экспериментальных значений внутренних концентраций ионов для клетки эритроцита

Ионы	Экспериментальные данные, мМ	Рассчитанные данные, мМ
Натрий	10	6,1
Калий	135	97,5
Хлор	78	69,6
Кальций	$(30 \div 60) \cdot 10^{-6}$	$24 \cdot 10^{-5}$
Магний	2,5	3,5
Бикарбонат	16	16,3
Литий	$0,7 \div 1,0$	0,06
Протоны	0,062	0,061
Цинк	0,024	0,028

Для построения модели ионного транспорта в клетке гепатоцита также использовался «эквивалентный транспортер» для описания процессов переноса ионов калия. Для нахождения концентраций непроникающих анионов, входящих в выражение для расчета мембранного потенциала, использовалось условие равенства давлений внутри и снаружи клетки. Результаты моделирования приведены в таблице 3.

Таблица 3.

Сравнение рассчитанных и экспериментальных значений внутренних концентраций ионов для клетки гепатоцита

Ионы	Экспериментальные данные, мМ	Рассчитанные данные, мМ
Натрий	29	4,3
Хлор	20	16,2
Бикарбонат	25	4,5

Применение предложенных алгоритмов регуляции для моделирования транспорта ионов натрия в клетке гепатоцита в условиях изменяющейся внешней среды позволило объяснить наблюдаемое в опытах одновременное включение Na-K-Cl-котранспортера и Na-H-антипорта при уменьшении внешней концентрации ионов натрия.

С помощью предложенного алгоритма был получен явный вид зависимостей мембранного потенциала покоя от внеклеточных концентраций для клеток кардиомиоцита, нейрона, эритроцита и гепатоцита. Сравнение

рассчитанных значений мембранного потенциала покоя с экспериментальными значениями приведено в Таблице 4.

Таблица 4.

Сравнение рассчитанных и экспериментальных значений мембранного потенциала для четырех типов клеток

тип клетки	экспериментальное значение, мВ	рассчитанное значение, мВ
кардиомиоцит	$-(83 \div 100)$	-90,8
нейрон кальмара	$-(65 \div 70)$	-68,7
нейрон млекопитающего		-70,7
эритроцит	-11	-10,9
гепатоцит	-49,8	-47,4

Хорошее согласование рассчитанных значений с экспериментальными данными позволяет верифицировать предложенную модель.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Клетки животных, как правило, имеют большое число различных транспортных систем ионов, которые обеспечивают необходимый внутренний состав и потенциал на мембране, и слабую зависимость этих параметров от состава внешней среды. Теоретическое моделирование переноса ионов через мембрану клетки наталкивается на трудности связанные с отсутствием информации о числе параллельно работающих систем транспорта. В работе предложен и апробирован алгоритм с обратной связью, который позволяет выявить механизмы установления определенного внутреннего состава клеток и их регуляции при варьировании состава внешней среды без информации о числе транспортных систем, скорости и частоте их работы.

2. На основе идей адаптивного и робастного управления предложено разбить параллельно работающие системы транспорта ионов одного типа на главные, обеспечивающие необходимый уровень значений внутренних параметров, и регуляторные, ответственные за гомеостаз. Такое разбиение позволяет оставить по одному слагаемому, соответствующему главному механизму переноса, в выражениях для суммарных потоков ионов. Полученная таким образом система уравнений не содержит неопределенных констант и позволяет выразить аналитическую зависимость значений внутренних концентраций и мембранного потенциала от значений концентраций внешней среды.

3. Разработан алгоритм выявления главных транспортных систем на основе последовательного сравнения рассчитанных значений внутренних концентраций для каждого типа механизмов транспорта с экспериментальными значениями.

4. Для нахождения неизвестных значений концентраций непроникающих анионов предложено использовать приближенное равенство осмотических давлений по обе стороны мембраны.

5. Показано, что при отклонении внешних концентраций от типичных значений уровень внутренних концентраций и потенциала можно приближенно поддерживать путем смены основной транспортной системы на одну из

регуляторных. Соответствующие смены транспортных систем обнаруживаются в эксперименте.

6. Показано, что управляя интенсивностью работы различных транспортных систем можно добиться строгого постоянства таких параметров, как внутренние концентрации и потенциал покоя в определенном диапазоне изменения значений внешних концентраций.

7. Предложенные алгоритмы применены для построения модели транспорта ионов в клетках кардиомиоцита, нейрона, гепатоцита и эритроцита. Рассчитанные значения потенциала хорошо согласуются с опытными данными

- для клетки сердечной мышцы рассчитанное значение $-90,8$ мВ (экспериментальные данные $-83 \div -100$ мВ);

- для нейрона кальмара и млекопитающего соответственно $-68,7$ мВ и $-70,7$ мВ (экспериментальные данные $-65 \div -70$ мВ);

- для эритроцита $-10,9$ мВ (экспериментальные данные -11 мВ);

- для гепатоцита $-47,4$ мВ (экспериментальные данные $-49,8$ мВ).

Выведенные согласно алгоритму зависимости значений внутриклеточных концентраций от внешних концентраций и потенциала позволяют рассчитать внутренние концентрации; полученные таким образом значения также хорошо согласуются с результатами опытов.

Применение алгоритмов моделей регуляции ионного транспорта позволило математически обосновать наблюдаемые в экспериментах процессы активации дополнительных систем транспорта.

Цитируемая литература:

1. Melkikh A.V. Models of active transport of ions in biomembranes of various types of cells / A.V. Melkikh, V.D. Seleznev. // J. Theor. Biol. 2005. Vol. 324. Iss. 3. P. 403-412.
2. Melkikh A.V. Requirements on models and models of active transport of ions in biomembranes / A.V. Melkikh, V.D. Seleznev. // Bull. Math. Biol. 2006. Vol. 68. P. 385-399.
3. Melkikh A.V. Model of active transport of ions in biomembranes based on ATP-dependent change of height of diffusion barriers to ions / A.V. Melkikh, V.D. Seleznev. // J. Theor. Biol. 2006. Vol. 242. Iss. 3. P. 617-626.
4. Alvarez-Leefmans F.J. Intracellular chloride regulation / F.J. Alvarez-Leefmans. In: N. Sperelakis (Ed.) Cell Physiology Sourcebook. Third Edition. Academic Press. San Diego. 2001. P. 301-318.
5. Flatman P.W. Stimulation of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ cotransport by arsenite in ferret erythrocytes / P.W. Flatman, J. Creanor // J. Physiol. 1999. Vol. 519. P. 143-152.
6. Hilgemann D.W. Steady-state and dynamic properties of cardiac sodium-calcium exchange. Secondary modulation by cytoplasmic calcium and ATP / D.W. Hilgemann, A. Collins, S. Matsuoka // J. Gen. Physiol. 1992. Vol. 100. P. 933-961.
7. Hume J.R. Anion transport in heart / J.R. Hume, D. Duan, M.L. Collier, J. Yamazaki, B. Horowitz // Physiological Reviews. Vol. 80. № 1. 2000. P. 31-81.

ОСНОВНЫЕ ПОЛОЖЕНИЯ ДИССЕРТАЦИИ ОПУБЛИКОВАНЫ В СЛЕДУЮЩИХ РАБОТАХ:

Статьи в журналах, сборниках и материалах конференций

1. Melkikh A.V. Model of active transport of ions in cardiac cell / A.V. Melkikh, M.I. Sutormina // J. Theor. Biol. 2008. Vol. 252. Iss. 2. P. 247-254.
2. Мелких А.В. Модель активного транспорта ионов в гепатоцитах / А.В. Мелких, М.И. Сутормина // Биофизика. 2010. Том 55. Вып. 1. С. 83-87.
3. Сутормина М.И. Эффективные стратегии регуляции транспорта ионов в эритроцитах / М.И. Сутормина, А.В. Мелких // Научно-практическая конференция по неравновесным процессам в современных технологиях: сборник статей. Екатеринбург: УГТУ-УПИ, 2009. С. 84-87.
4. Сутормина М.И. Эффективная регуляция внутриклеточной концентрации ионов как функции двух переменных на примере нейрона / М.И. Сутормина. Научно-практическая конференция студентов и молодых учёных кафедры технической физики: сборник статей. Екатеринбург: УГТУ-УПИ, 2010. С. 42-46.
5. Сутормина М.И. Моделирование стратегий регуляции объема и давления в гепатоцитах / М.И. Сутормина. XVII Международная конференция молодых ученых по приоритетным направлениям развития науки и техники: сборник статей, в 3 ч. Екатеринбург: УГТУ-УПИ, 2010. Ч. 2. С.185-190.
6. Сутормина М.И. Алгоритм моделирования систем транспорта ионов в клетке / М.И. Сутормина. XVIII Международная конференция молодых ученых по приоритетным направлениям развития науки и техники: сборник статей, в 3 ч. Екатеринбург: УГТУ-УПИ, 2010. Ч. 3. С. 216-219.

Тезисы докладов

7. Melkikh A.V. Transport processes in minimal cell: robustness and effectiveness / A.V. Melkikh, V.D. Seleznev, M.I. Sutormina // The 4th International Meeting on Synthetic Biology. SB'4.0 Abstracts, October 10-12 2008. Hong Kong, China, 2008. P. 116.
8. Сутормина М.И. Иерархическое моделирование процесса переноса ионов в нейроне / М.И. Сутормина, А.В. Мелких // XVII Международная конференция "Математика. Компьютер. Образование", Дубна, 25-30 января 2010 г.: сборник тезисов. Москва-Ижевск, 2010г. С. 265.

Подписано в печать

плоская печать

Формат 60×84 1/16

Бумага писчая

Тираж 100 экз.

Заказ

Ризография НИЧ УрФУ
620002, Екатеринбург, ул. Мира, 19